

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

17 August 2000 (17.08.00)

International application No.:

PCT/JP99/00648

Applicant's or agent's file reference:

WA-0448

International filing date:

15 February 1999 (15.02.99)

Priority date:

Applicant:

NODA, Masatoshi et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

15 June 2000 (15.06.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was



was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

REC'D 16 FEB 2001

WIPO

PCT


PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 書類記号 WA-0448	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/00648	国際出願日 (日.月.年) 15.02.99	優先日 (日.月.年)
国際特許分類(IPC) Int. Cl. ⁷ A61K31/353, A61K35/78//C07D311/6		
出願人(氏名又は名称) ニッカウキスキー株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>4</u> ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で <u> </u> ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 15.06.00	国際予備審査報告を作成した日 29.01.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 齋藤 恵 	4 P 9164
電話番号 03-3581-1101 内線 3490		

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	1-6, 9-11	有
	請求の範囲	7, 8	無
進歩性(IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-11	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-11	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

I. 関連する文献

国際調査報告には、以下の文献が示されている。

文献1 / Phytochemistry, 1997, Vol. 42, No. 1, p. 109-119

文献2 / WO, 94/03193, A1

文献3 / JP, 10-29947, A

文献4 / JP, 2-306915, A

また、国際調査報告には示されていなかった文献であるが、本国際予備審査報告では、本国際出願に関連する先行技術文献として新たに以下の文献を提示する。

文献5 / LUBRAN M. M., Bacterial Toxins,
Annals of Clinical and Laboratory Science, 1988, Vol. 18, No. 1, p. 58-71

文献6 / WO, 96/00561, A1

II. 新規性について

文献4には、カテキン等の茶ポリフェノールを有効成分とするコレラ菌等の細菌性菌体外毒素に対する抗毒素剤が記載されている。文献6にも記載されているように、カテキンはプロアントシアニジンの一種であるから、請求の範囲7、8に記載された生体内毒素型細菌性腸管感染症治療/予防剤は、新規性を有さない。

そして、請求の範囲1-6、9-11に記載されたADPリボシル化阻害剤、およびこれを有効成分とする生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤/予防剤は、国際調査報告に示された文献および本国際予備審査報告において新たに追加された文献のいずれにも記載されていないから、新規性を有する。

(なお、文献2、3には、それぞれ、大黄等の生薬抽出物、RGタンニンがコレラトキシンのADPリボシル化活性を抑制することが記載されているが、これら成分がプロアントシアニジンであるとは認められない。)

(続きあり)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V 欄の続き

I I I. 進歩性について

文献1には、メキシコで下痢の治療に用いられていた植物から抽出／分離されプロアントシアニジンがコレラトキシンを不活性化作用を有することが記載されている。また、文献4には、コレラトキシンによるADPリボシル化が腸管での水分吸収を阻害すること、および、ジフテリアトキシンも、ADPリボシル化活性を持っていることが記載されている。

したがって、コレラトキシンを不活化するプロアントシアニジンが、ADPリボシル化を阻害すること、および、そのADPリボシル化阻害作用を生体内毒素型細菌型腸管感染症の療剤／予防に用いることは、当業者に自明のことである。このように、請求の範囲1、2、4、6-8、10に記載されたADPリボシル化阻害剤、およびこれを有効成分とする生体内毒素型細菌型腸管感染症治療剤／予防剤は、進歩性を有さない。

また、文献5には、プロアントシアニジンの一種であるプロシアニジンがブドウやリンゴに含まれる化学物質であること、および、これら植物からプロアントシアニジン各種有機溶媒で抽出したり、さらに、各種クロマトグラフィーにより分離精製することが記載されているから、プロアントシアニジンのADPリボシル化阻害作用に基づき、これを有効成分とする生体内毒素型細菌型腸管感染症治療剤／予防剤として用いるにあたって、プロアントシアニジンをブドウ、リンゴ等の植物から有機溶媒で抽出し、さらに、各種クロマトグラフィーにより分離したものをを用いることも、文献5の記載から当業者に自明である。

したがって、請求の範囲3、5、9に記載されたADPリボシル化阻害剤、およびこれを有効成分とする生体内毒素型細菌型腸管感染症治療剤／予防剤も、進歩性を有さない。

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類6 A61K 31/35, 31/78 // C07D 311/62	A1	(11) 国際公開番号 WO00/47204 (43) 国際公開日 2000年8月17日(17.08.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/00648 (22) 国際出願日 1999年2月15日(15.02.99) (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) ニッカウキスキー株式会社 (THE NIKKA WHISKY DISTILLING CO., LTD.)[JP/JP] 〒107-8616 東京都港区南青山5丁目4番31号 Tokyo, (JP) (71) 出願人 ; および (72) 発明者 野田公俊(NODA, Masatoshi)[JP/JP] 〒284-0045 千葉県四街道市美しが丘三丁目6番14号 Chiba, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 神田智正(KANDA, Tomomasa) 〒277-0885 千葉県柏市西原6-9-11-203 Chiba, (JP) 柳田顕郎(YANAGIDA, Akio) 〒125-0042 東京都葛飾区金町3-7-4-101 Tokyo, (JP) 稗田一男(HIEDA, Kazuo) 〒277-0074 千葉県柏市今谷上町7-47 Chiba, (JP)	(74) 代理人 弁理士 渡邊一平(WATANABE, Kazuhira) 〒111-0053 東京都台東区浅草橋3丁目20番18号 第8菊星タワービル3階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) 添付公開書類 国際調査報告書	
(54) Title: ADP-RIBOSYLATION INHIBITORS AND REMEDIES FOR ENDOTOXIC BACTERIAL ENTERIC INFECTION CONTAINING PROANTHOCYANIDIN AS THE ACTIVE INGREDIENT (54) 発明の名称 プロアントシアニジンを含む有効成分とするADP-リボシル化阻害剤、および生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤 (57) Abstract Remedies for endotoxic bacterial enteric infection which contain as the active ingredient proanthocyanidin-containing materials derived from natural matters such as apple extract or grape extract and inhibit and attenuate toxins produced by endotoxic bacteria causative of enteric infection typified by pathogenic vibrio (Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus), thus being efficacious in fundamentally treating and preventing the infection; medicinal compositions for treating/preventing diphtheria, etc. with the use of the ADP-ribosylation inhibitory effect of proanthocyanidin; food additives usable in preventing and treating the above diseases; and foods containing these additives.		

(57)要約

リンゴ抽出物、ブドウ抽出物等の天然物由来のプロアントシアニジン含有物質を有効成分とする、病原性ビブリオ菌（コレラ菌、腸炎ビブリオ）に代表される生体内毒素型細菌による腸管感染症原因菌が産生する毒素の活性を阻害、無毒化し、感染症の根本的治療および予防に有効な生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤、およびプロアントシアニジンが有するADP-リボシル化阻害作用を利用したジフテリア等の治療用／予防用医薬用組成物、並びに、上記疾病の治療、および予防に使用する食品添加物、同添加物を加えた食品。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	HR	クロアチア		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HU	ハンガリー	ML	マリ	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	ID	インドネシア	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CH	スイス	IL	イスラエル	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボワール	IN	インド	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IS	アイスランド	MZ	モザンビーク	VN	ベトナム
CN	中国	IT	イタリア	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	JP	日本	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	KE	ケニア	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KG	キルギスタン	NZ	ニュージーランド		
CZ	チェコ	KP	北朝鮮	PL	ポーランド		
DE	ドイツ	KR	韓国	PT	ポルトガル		
DK	デンマーク			RO	ルーマニア		

明 細 書

プロアントシアニジンを含む有効成分とするADP-リボシル化阻害剤、および生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤

技術分野

本発明はプロアントシアニジンを含む有効成分とするADP-リボシル化阻害剤に関し、さらに詳しくは、プロアントシアニジンを含む有効成分とする生体内毒素型細菌性腸管感染症の治療および／または予防用の医薬品組成物、あるいは、プロアントシアニジンの食品添加物、および／または食品としての利用に関する。

背景技術

1998年のWHOの統計によれば、世界中の細菌性感染症による死亡者数は2000万人におよぶとされている。特に、コレラによる被害者は年間数百万人に達すると云われており、抗生物質やワクチン等の医療技術が進歩した現在でさえ、その数は減少していない。また近年の国際交通機関の目覚ましい発達に伴う人的交流、物資の移動の増加により、先進諸国においてもコレラ菌や赤痢菌、毒素原性大腸菌、サルモネラ菌等によって引き起こされる旅行者下痢症の発生例は増加する傾向にある。

コレラは、コレラ菌 (*Vibrio cholerae*) の感染によって引き起こされる激しい水様性下痢症を主体とする非常に死亡率の高い感染症であり、アジアやアフリカを中心に世界中で見られる疾患である。この感染症の発症機構は、経口摂取されたコレラ菌が小腸粘膜に定着、増殖し、コレラ毒素 (コレラトキシン) を産生する。コレラトキシンは、赤痢菌、毒素原性大腸菌、腸管出血性大腸菌等の毒素に見られるような2種類の蛋白質のサブユニットからなる構造を有し、Bサブユニットは腸管上皮細胞のガングリオシドGM1に結合する。コレラトキシンのAサブユニットはADP-リボシル化酵素活性を有し、GTP結合蛋白質の一つであるGS α をADP-リボシル化してアデニル酸シクラーゼを活性化し、腸管上皮細胞のcAMP濃度を上昇させ、水や電解質の大量分泌を促し、水様性下痢症を

引き起こすことが知られている (Med. Immunol. 21, 359-365 (1994)、小児内科、28(9)、1186-1193 (1996)、野田公俊)。

現在のコレラに対する治療法は、対症療法である輸液療法であり、根本的な治療方法ならびに治療薬は未だ出現していないのが現状である。本発明者等の一人である野田公俊は、鋭意検討の結果、既にコレラ菌に代表される腸管感染症原因菌が産生する毒素の活性を阻害、無毒化する「生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤」(特願平6-505177号、野田公俊、西谷 肇、山口守道)や、「ガリック酸エステル誘導体及びこれを有効成分とする医薬」(特開平10-273495号、上野真路、高井 泉、大井浩資、足立正一、野田公俊)を開発してるが、前者は漢方薬を主体としているため製造上の各種制約からコスト等に問題があり、後者は合成品であるがゆえ安全性試験等更に多くの研究を必要とし、医薬品として実用化されるまでに少なくとも数年の歳月を要する。以上のように現状では、天然物であって、人体に対する安全性が高く、しかも、低廉な薬価で提供できる生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤は見出されておらず、これらの条件を満足する物質が切望されている。

発明の開示

本発明の目的は、病原性ビブリオ菌(コレラ菌、腸炎ビブリオ)に代表される生体内毒素型細菌による腸管感染症原因菌が産生する毒素の活性を阻害、無毒化し、感染症の根本的治療および/または予防作用を有する安全性の高い天然物由来のADP-リボシル化阻害剤および/または生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤を提供することにある。

本発明者等は、コレラに代表される毒素の生体内活性であるADP-リボシル化の阻害および水様性下痢症の抑制作用を有し、かつ人体に対して有害な作用を示さない天然物、特に食用植物由来の物質を見出すべく鋭意研究を行った結果、リンゴ抽出物、ブドウ抽出物等の食用植物由来の物質に極めて有効なADP-リボシル化阻害作用および生体内毒素型細菌性腸管感染症治療作用を有する物質が存在することを見出し、本発明を完成するに至ったものである。

図面の簡単な説明

図 1 は、試験例 1 に於けるリンゴ抽出物濃度と阻害活性の関係を表したグラフである。

発明を実施するための最良の形態

本発明において使用可能な有効成分の一つであるリンゴ抽出物は、そのほとんどがポリフェノール類から構成されている。これらのポリフェノール類については、既に本発明者等が成分特性、安全性や製法に関し鋭意研究を行い、その機能性および実用性を確認し特願平 7-285876 号として特許出願すると共に、同出願の出願者によって、食品素材、食品添加物、化粧品素材等として製造、販売され、様々な食品、加工食品、化粧品等に使用されているという実績がある。今回、本発明者は、鋭意研究の結果、上記のポリフェノール類の中に、ADP-リボシル化阻害作用および生体内毒素型細菌性腸管感染症治療作用を示す成分があることを見出し、その成分がポリフェノールの一種であるプロアントシアニジンであることを確認したものである。

プロアントシアニジンは、フラボノイド骨格を持つフラバン-3-オールまたはフラバン-3,4-ジオールを構成成分として縮合もしくは重合によって結合した 2 量体以上の物質であり (Hemingway R. W. et al., Chemistry and Significance of Condensed Tannins, 83-107)、例えば、リンゴ抽出物中には、主に 2~15 量体のプロアントシアニジンが含有されていることが確認されている (Ohnishi-Kameyama M. et al., Rapid Comm. Mass Spectrom., 11, 31-36 (1997))。

本発明において、有効成分として使用可能なものとしては、植物由来の 2~15 量体のプロアントシアニジンを含む抽出物であればよく、植物材料は、十分な量の 2~15 量体のプロアントシアニジンを含む抽出物が得られるものであれば、その種類の如何を問わず使用可能である。勿論、これら抽出物は、粗抽出物でも差し支えないが、一定量以上の 2~15 量体のプロアントシアニジンを含むことを要する。抽出物から、さらに 2~15 量体のプロアントシアニジン、好ましくは、4~15 量体のプロアントシアニジン、さらに好ましくは、6 量体以上のプロアントシアニジンを分離、精製したものを使用してもよい。これらの 2~15

量体、好ましくは4～15量体、さらに好ましくは、6量体以上のプロアントシアニジンの画分の分離、抽出は、特願平10-184143号出願に係る方法により行うことができる。参考のために、ここにその内容を引用する。

また、プロアントシアニジンを含む食用植物としては、例えば、バラ科ではリンゴ以外にもイチゴ、キイチゴ等、バラ科以外ではブドウ科のブドウ、マタタビ科のキウイフルーツ、ツツジ科のブルーベリー、クランベリー、マメ科のアズキ、タマリンド、カキノキ科のカキ、バショウ科のバナナ、ウルシ科のカシューナッツ、アオギリ科のカカオ、ブナ科のナラ、カシ、クリ、シイ、アサ科のホップ等が挙げられる。中でも、摘果されたリンゴの幼果、ブドウの搾汁残渣中に含まれる種子などが、資源の有効利用、抽出量等の点から、好適に使用される。

すなわち、本発明によれば、食用植物由来のプロアントシアニジンを含む有効成分とするADP-リボシル化阻害剤および生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤が提供される。本発明に係るプロアントシアニジンを含む有効成分とするADP-リボシル化阻害剤、および生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤および/または、プロアントシアニジン以外に、他のポリフェノール類や有機酸類あるいは糖類がプロアントシアニジンに結合しているもの、および水和物に代表される溶媒和物を含み、また原料由来の他の成分を含有していてもよい。

本発明に係る食用植物由来のプロアントシアニジンを含む有効成分として含有する医薬用組成物は、コレラ、ボツリヌス、旅行者下痢症等の生体内毒素型細菌性腸管感染症の治療用および/または予防剤として有用である。さらに、ADP-リボシル化阻害剤としての効果が高いことから、生体内毒素型細菌性腸管感染症以外にも、ADP-リボシル化酵素がその発症と深く関与していることが知られているジフテリア、百日咳、破傷風、日和見感染症等の治療用および/または予防薬剤としても有効である。

本発明に係る食用植物由来のプロアントシアニジンを含む有効成分として含有する医薬用組成物は、通常医薬品としての製剤化に用いられる担体や賦形剤、その他の添加剤を用いて調製される。製剤用の担体や賦形剤としては、固体又は液体いずれでもよく、例えば乳糖、蔗糖脂肪酸エステル、デキストリン、ステアリン酸マグネシウム、スターチ、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、

オリーブ油、ゴマ油、カカオバター、エチレングリコール等が挙げられる。

本発明に係る食用植物由来のプロアントシアニジンの投与は、通常、錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、液剤等による経口投与による。投与量は、症状、投与対象の年齢、性別等を考慮して個々の場合に依りて適宜決定されるが、通常成人1人当たり、プロアントシアニジン量換算で1日につき100mg～10g、好ましくは200mg～1gの範囲で1日1回から数回に分け経口投与すればよい。勿論、投与量は種々の条件で変動するので、上記投与量範囲より少ない量で十分な場合もある。

本発明による経口投与のための固体組成物としては、錠剤、散剤、顆粒剤等が用いられる。このような固体組成物においては、食用植物由来のプロアントシアニジンを、少なくとも一種類の不活性な希釈剤、例えば乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、メタケイ酸、アルミン酸マグネシウム等と混合する。組成物は、必要に応じ、不活性な希釈剤以外の添加剤、例えばステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤や繊維素グルコール酸カルシウムのような崩壊剤、ラクトースのような安定化剤、グルタミン酸又はアスパラギン酸のような溶解補助剤を加えてもよい。錠剤又は丸剤は必要によりショ糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、還元パラチノース、ツェイン等の胃溶性あるいは腸溶性物質のフィルムで被膜してもよい。

経口投与のための液体組成物は、食用植物由来のプロアントシアニジンを有効成分として含有させればよく、例えば、薬剂的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等の形態とすることができる。このような経口投与用の液体組成物は、通常用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水、エタノールと、必要に応じ、湿潤剤、懸濁剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ラクトース）、溶解補助剤（例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸）のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を加えて製剤すればよい。

勿論、食品添加物として使用してもよい。この場合には、予防的な効果も期待できる。食品が、例えばミルク、清涼飲料やジュースなどの液体の場合には、飲用直前にこれらのものに添加して、飲用してもよい。そのときの使用量は、液体

飲料100cc当たり50mgから1,000mg程度である。パスタ、パン、米などの主食に添加する場合には、調理時または加工時にこれら食品100g当たり50mgから500mg程度を加えればよい。

実施例

以下、実施例を挙げて、本発明を更に詳細に説明するが、本発明は下記実施例によって何ら限定されるものではない。

製造例1 リンゴ抽出物の製造

リンゴ幼果10kgを洗浄後、破碎・圧搾し、得られた果汁を遠心分離および濾過し、8.5kgの清澄果汁を得た。これをスチレン系吸着樹脂カラム（1L容）に通液後、水洗浄した後、65%のエタノール水溶液で溶離した。得られた溶出液を減圧下で濃縮後、噴霧乾燥してリンゴ抽出物59.7gが得られた。

製造例2 ブドウ抽出物の製造

ブドウ果実を除梗後圧搾し、その搾り粕を篩にかけ種子を採取した。種子1kgを水洗浄した後、50%エタノールで抽出、減圧下で濃縮、濾過して抽出液を得た。これをスチレン系吸着樹脂カラム（1L容）に通液後、水洗浄した後、65%のエタノール水溶液で溶離した。得られた溶出液を減圧下で濃縮後、噴霧乾燥してブドウ抽出物40.7gが得られた。

製造例3 リンゴ抽出物各画分の分離

製造例1で得られたリンゴ抽出物水溶液を、スチレン系吸着樹脂カラムを用いてプロアントシアニジン89%を含む総プロアントシアニジン画分を得た。この総プロアントシアニジン画分を高速液体クロマトグラフィーを用いて、単量体画分（カテキン類）、2量体画分、3量体画分、4量体画分、5量体画分、6量体以上の画分に分画し、それぞれ減圧濃縮後、凍結乾燥して、各画分乾燥品を得た。

製剤例1

製造例1で得られたリンゴ抽出物50gに、コーンスターチ30g、結晶性セルロース10g、カルボキシメチルセルロースのカルシウム塩4g、ステアリン酸マグネシウム1gの割合で混ぜ、打錠機で打錠し、錠剤を得た。

製剤例2

製造例1で得られたリンゴ抽出物50gに、カルボキシメチルセルロースのカルシウム塩7g、ステアリン酸マグネシウム2g、無水珪酸1gの割合で混ぜ、このものに適量の滅菌水を加え、造粒押し出し、乾燥して、顆粒剤を得た。

製剤例3

製造例1で得られたリンゴ抽出物45gに、蔗糖脂肪酸エステル5gを混ぜ、打錠機で打錠し、還元パラチノース25gでコーティングした後、さらにツェイン2gでコーティングを行い、錠剤を得た。

試験例1 アグマチンアッセイによる検定

コレラトキシンは細胞内のG蛋白質であるGs α をADP-リボシル化し、さらにアグマチンを受容体基質としてNADからADP-リボースを転移することが知られている。コレラトキシンの阻害活性を調べるため、このメカニズムに従い、野田らの報告したアグマチンアッセイ法 (Noda M. et al., Biochemistry, 28, 7936(1989)) を用いて行った。

すなわち、1 μ gのコレラトキシンと下記の表1に示す所定量の被験試料とを、50mMのリン酸カリウム緩衝液 (pH7.5)、5mM MgCl₂、100 μ M GTP、100 μ M [アデニン-¹⁴C] NAD (6000 cpm)、20mM DTT、2.0mM アグマチンおよび0.1mg/ml オボアルブミンの反応液と混合し (合計300 μ l)、30℃で3時間反応させた。この反応液50 μ lを、ダウエックスAG1-X2 (Bio Rad 社製) を充填したカラム (ϕ 5 \times 20mm) に通液し、未反応の [アデニン-¹⁴C] NADを除去し、コレラトキシンのADP-リボシル化反応により形成された [アデニン-¹⁴C] ADPリボシル化アグマチンの放射活性を測定した。この [アデニン-¹⁴C] ADPリボシ

ル化アグマチンの形成を指標として、被験試料によるコレラトキシンのADPリボシル化転移酵素活性の阻害率を求めた。結果を表1に示す。さらにリンゴ抽出物に関し、濃度と阻害活性の関係を表したグラフを図1に示す。

表 1

コレラトキシシン阻害率 (%)

被験試料	濃 度	阻 害 率
リンゴ抽出物 (幼果) ※1	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	95.4 %
ブドウ抽出物 (種子)	63 $\mu\text{g}/\text{ml}$	96.1 %
ヒマワリ抽出物 (種子)	167 $\mu\text{g}/\text{ml}$	4.0 %
大黄抽出物 (生薬) ※2	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	99.3 %
総プロアントシアニジン画分	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	97.8 %
単量体 (カテキン類)	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.0 %
2量体画分	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	7.0 %
3量体画分	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	9.5 %
4量体画分	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	51.8 %
5量体画分	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	96.7 %
6量体以上の画分	25 $\mu\text{g}/\text{ml}$	97.6 %

※1 : リンゴ抽出物 IC₅₀ < 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

※2 : 陽性対象 ; 特願平6-505177号

ここで、リンゴ抽出物およびブドウ抽出物中には、それぞれ、ポーター法で分析したとき、プロアントシアニジンB₂換算で、51%、63%が含有されていた。

試験例2 ウサギ結紮腸管法による検定

コレラトキシンは細胞内のG蛋白質であるGs α をADP-リボシル化し、アデニル酸シクラーゼを持続的に活性化させ、腸管上皮細胞のcAMP濃度を上昇させ、水や電解質の大量分泌を促し、水様性下痢を引き起こすことが知られている。コレラトキシンによって引き起こされる下痢症に対する抑制活性を調べるため、Deららの報告したウサギ結紮腸管法 (De S. N. and D. N. Chatterje, J. Pathol. Bacteriol., 66, 559(1953)) を用いた水様性下痢症による液体貯留活性に対するリング抽出物の検討を行った。すなわちウサギの小腸を15cm毎に結紮し、数ヶ所の閉鎖系腸管ループを設けた。各腸管ループにコレラトキシンを1 μ gと各濃度の被験試料を投与後、ウサギの体内に戻した。腸管ループを戻したウサギをできるだけ快適な状態に保ち、18時間後コレラトキシンによる液体貯留活性を調べた。

その結果、リング抽出物は50 μ g/ループでほぼ完全にコレラトキシン1 μ gによる液体貯留活性を抑制した。これらの結果から、本発明記載の食用植物抽出物およびその有効成分プロアントシアニジンは、漢方薬「大黄」抽出物と同様にコレラトキシンに作用し、ADP-リボシル化転移酵素活性を阻害することにより、抗コレラトキシン活性を有することが確認された。

産業上の利用可能性

本発明に係るプロアントシアニジンを有効成分とするADP-リボシル化阻害剤は、生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤および/または予防剤として有効である。なお、上記のような食用植物抽出物に含まれる有効成分としてのプロアントシアニジンは、人類の歴史とともに、その原料である植物は、食用として利用され続けていることから、その安全性は既に確立されているといえる。しかし、食品添加物としての利用に先立ち、急性毒性試験等を行いその安全性をさらに確認している。既に、食用植物抽出物として、酸化防止剤、あるいは、食品素材として、広く使用されているが、特に人体への悪影響については全く報告されて居らず、極めて安全性が高く、生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤および/または予防剤としての効果も高いことから極めて有用な医薬品を提供できるものと考えられる。

請求の範囲

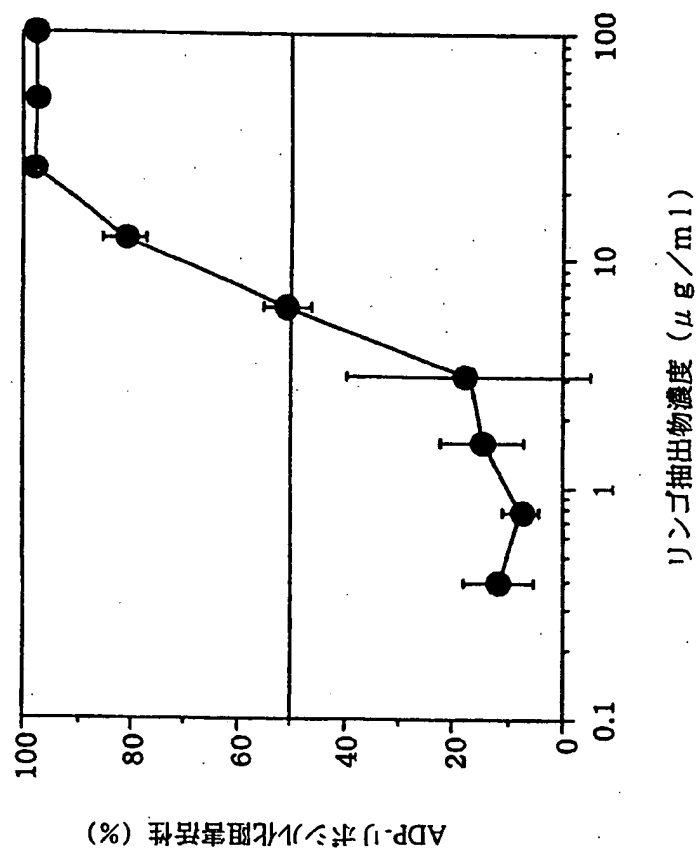
1. プロアントシアニジンを含む有効成分とするADP（アデノシン5'-ニリン酸）-リボシル化阻害剤。
2. プロアントシアニジンが、食用植物もしくは食用植物由来の材料から得られたものであることを特徴とする請求項1に記載のADP-リボシル化阻害剤。
3. 食用植物もしくは食用植物由来の材料が、リンゴ由来またはブドウ由来の抽出物であることを特徴とする請求項2に記載のADP-リボシル化阻害剤。
4. プロアントシアニジンが、水、アルコール類、エステル類、ケトン類から選ばれた1種またはそれ以上の溶媒を用いて抽出されたものであることを特徴とする請求項1～3のいずれか1項に記載のADP-リボシル化阻害剤。
5. プロアントシアニジンが、スチレン系吸着樹脂、陰イオン交換樹脂、オクタデシル基化学結合型シリカゲル、オクチル基化学結合型シリカゲル、フェニル基化学結合型シリカゲル、およびシリカゲルを用いて精製されたものであることを特徴とする請求項1～4のいずれか1項に記載のADP-リボシル化阻害剤。
6. 請求項1～5のいずれか1項に記載のADP-リボシル化阻害剤を有効成分とすることを特徴とするジフテリア、百日咳、破傷風、日和見感染症用治療用および／または予防用医薬組成物。
7. プロアントシアニジンを含む有効成分として含有することを特徴とする生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤および／または予防剤。
8. コレラ、ボツリヌス、旅行者下痢症用治療用および／または予防用であることを特徴とする請求項7に記載の生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤および／または予防剤。
9. プロアントシアニジンが、リンゴ由来またはブドウ由来の抽出物であることを特徴とする請求項7または8に記載の生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤および／または予防剤。
10. プロアントシアニジンが、水、アルコール類、エステル類、ケトン類から選ばれた1種またはそれ以上の溶媒を用いて抽出されたものであることを特徴とする請求項7～9のいずれか1項に記載の生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤

および／または予防剤。

11. プロアントシアニジンが、スチレン系吸着樹脂、陰イオン交換樹脂、オクタデシル基化学結合型シリカゲル、オクチル基化学結合型シリカゲル、フェニル基化学結合型シリカゲル、およびシリカゲルを用いて精製されたものであることを特徴とする請求項7～10のいずれか1項に記載の生体内毒素型細菌性腸管感染症治療剤および／または予防剤。

1/1

図1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/00648

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K31/35, A61K31/78 // C07D311/62

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K31/00-78, C07D311/00-62

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN), PROANTHOCYANIDIN? DIARRH?, CHOLERA, BOTULINUS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	HOR, M.; NEINRICH, M.; RIMPLER, H.; Proanthocyanidin Polymers with Antisecretory Activity and Proanthocyanidin Oligomers from <u>Guazuma Ulmifolia</u> Bark. Phytochemistry, Vol. 42, No. 1, p.109-119 (1997)	1-8, 10 1-8, 10, 11 9
X Y A	WO, 94/03193, A1 (Tsumura & Co.), 17 February, 1994 (17. 02. 94) (Family: none)	1-8, 10 1-8, 10, 11 9
Y A	JP, 10-29947, A (NIPPON KOTAI KENKYUSHO KK), 3 February, 1998 (03. 02. 98) (Family: none)	1-8, 10, 11 9
A	JP, 2-306915, A (MITSUI NORIN CO LTD), 20 December, 1990 (20. 12. 90) & EP, 397914, A	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.

E earlier document but published on or after the international filing date document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
27 April, 1999 (27. 04. 99)Date of mailing of the international search report
18 May, 1999 (18. 05. 99)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/00648

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. ⁶ A61K31/35; A61K31/78//C07D311/62

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl. ⁶ A61K31/00-78, C07D311/00-62

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)
PROANTHOCYANIDIN?, DIARRH?, CHOLERA, BOTULINUS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	HOR, M. ; NEINRICH, M. ; RIMPLER, H. ; Proanthocyanidin Polymers with Antisecretory Activity and Proanthocyanidin Oligomers from <u>Guazuma Ulmifolia</u> Bark. Phytochemistry, Vol. 42, No. 1, p. 109-119 (1997)	1-8, 10 1-8, 10, 11 9
X Y A	WO, 94/03193, A1 (株式会社 ツムラ) 17. 2月. 1994 (17. 02. 94) ファミリーなし	1-8, 10 1-8, 10, 11 9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27. 04. 99

国際調査報告の発送日

18.05.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 恵

印

4 P

9164

電話番号 03-3581-1101 内線 6608

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	JP, 10-29947, A (NIPPON KOTAI KENKYUSHO KK) 3. 2月. 1998 (03. 02. 98) ファミリーなし	1-8, 10, 11 9
A	JP, 2-306915, A (MITUI NORIN CO LTD) 20. 12月. 1990 (20. 12. 90) &EP, 397914, A	1-11

11/1980
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference WA-0448	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/00648	International filing date (day/month/year) 15 February 1999 (15.02.99)	Priority date (day/month/year)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/353, 35/78 // C07D 311/6		
Applicant THE NIKKA WHISKY DISTILLING CO., LTD.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>4</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 15 June 2000 (15.06.00)	Date of completion of this report 29 January 2001 (29.01.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

I tional application No.
PCT/JP99/00648

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/JP99/00648

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-6,9-11	YES
	Claims	7,8	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-11	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

I. Cited documents

The ISR cites the following documents:

Document 1: Phytochemistry, 1997, Vol. 42, No. 1, pages 109-119

Document 2: WO, 94-3193, A1

Document 3: JP, 10-29947, A

Document 4: JP, 2-306915, A

Furthermore, the present IPER newly cites the following documents that are not cited in the ISR, as prior art documents relevant to this international application.

Document 5: Lubran M.M., Bacterial Toxins, Annals of Clinical and Laboratory Science, 1988, Vol. 18, No. 1, pages 58-71

Document 6: WO, 96-561, A1

II. Novelty

Document 4 describes an antitoxin against bacterial exotoxins such as *Vibrio cholerae* containing a tea polyphenol such as catechin. Since catechin is a proanthocyanidin as also described in document 6, the remedies and preventives against vivotoxin form bacterial intestinal infectious disease described in claims 7 and 8 do not appear to be novel.

The ADP ribosylation inhibitor and the remedies and preventives against vivotoxin form bacterial intestinal infectious disease containing the same as an active ingredient described in documents 1-6 and 9-11 appear to be novel since they are not described in any of the documents cited in the ISR and the documents newly added in the IPER.

(Documents 2 and 3 describe that crude extracts of, for example, *Rheum officiale* Bailon and RG tannin respectively inhibit the ADP ribosylation activity of cholera toxin, but these components cannot be considered to be proanthocyanidins.)

III. Inventive step

Document 1 describes that the proanthocyanidin extracted or isolated from a plant used for treating diarrhea in Mexico acts to inactivate cholera toxin. Furthermore, document 4 describes that the ADP ribosylation by cholera toxin inhibits the absorption of water in the intestines, and that diphtheria toxin

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/00648

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of Box V (Citations and explanations):

also has ADP ribosylation activity.

Therefore, it is obvious for a person skilled in the art, that the proanthocyanidins capable of inactivating cholera toxin inhibit ADP ribosylation, and that the ADP ribosylation inhibitory action can be used in the remedies and preventives against vivotoxin form bacterial intestinal infectious diseases. So, the ADP ribosylation inhibitor and the remedies and preventives against vivotoxin form bacterial intestinal infectious disease containing the same as an active ingredient described in claims 1, 2, 4, 6-8 and 10 do not appear to involve an inventive step.

Furthermore, document 5 describes that procyanidin, one of the proanthocyanidins, is a chemical substance contained in grapes and apples, and that proanthocyanidins can be extracted with any of various organic solvents and, moreover, can be isolated and refined with any of various chromatographic techniques, respectively from these plants. So, it is obvious for a person skilled in the art from the description of document 5, that a proanthocyanidin extracted with an organic solvent or isolated with any of various chromatographic techniques from a plant such as grapes or apples can be used as a vivotoxin form bacterial intestinal infectious disease remedy or preventive containing the same as an active ingredient based on the ADP ribosylation inhibitory action of the proanthocyanidin.

So, the ADP ribosylation inhibitor and the vivotoxin form bacterial intestinal infectious disease remedy and preventive containing the same as an active ingredient do not appear to involve an inventive step.

(54) SOFT CAPSULE AGENT

(11) 2-306913 (A) (43) 20.12.1990 (19) JP
 (21) Appl. No. 64-125965 (22) 19.5.1989
 (71) TOKAI KAPUSERU K.K. (72) TATSU YAMADA(1)
 (51) Int. Cl⁵. A61K9/48

PURPOSE: To obtain a soft capsule agent without mutual sticking of capsules by moisture absorption or heating, etc., by blending a silicone resin in a capsule film.

CONSTITUTION: The objective soft capsule agent obtained by blending 0.5-20 pts.wt. silicone resin in 100 pts.wt. gelatin which is a principal ingredient of a film, filling an active ingredient in the prepared film and formulating a pharmaceutical according to a conventional method. The silicone resin refers to a resin mentioned in a food additive official compendium. Since capsules will not mutually stick by moisture, heating, etc., the agent can be stably preserved at ambient temperature even at high temperatures and high humidities in the summer period, etc.

(54) AMINO ACID PHARMACEUTICAL FOR CANCER

(11) 2-306914 (A) (43) 20.12.1990 (19) JP
 (21) Appl. No. 64-127188 (22) 19.5.1989
 (71) OTSUKA PHARMACEUTICAL FACTORY INC (72) NOBUHIKO KOMI(1)
 (51) Int. Cl⁵. A61K31/195//A61K31/195,A61K31/405,A61K31/415

PURPOSE: To obtain an amino acid pharmaceutical for cancer, containing amino acid ingredients and excellent in growth inhibition of cancerous cells, improvement in nutrition and macrobiotic effects.

CONSTITUTION: The objective substance, containing amino acid ingredients shown in the table and obtained by blending amino acids according to the composition expressed in terms of free amino acids and suitably mixing a normally used pharmaceutical carrier or diluent, additive, etc., therewith and formulating a pharmaceutical according to a conventional method. Although the pharmaceutical can be converted into a solution or powdery pharmaceutical for perenteric administration, an injection for intravenous administration, such as peripheral or central vein, as in amino acid transfusion solution is preferably provided. The dose thereof is 100-2000ml per day for an adult. There is no fear of inducing toxic action, such as occurrence of intoxication systems or fatty liver, found in a conventional amino acid imbalance pharmaceutical.

a	b (c)
d	33.9 ~ 63.1
e	6.7 ~ 13.0
f	3.3 ~ 6.3
g	3.3 ~ 6.3
h	10.0 ~ 19.0
i	3.6 ~ 6.8
j	1.1 ~ 2.3
k	1.3 ~ 2.6
l	4.0 ~ 7.6
m	2.0 ~ 3.8

a: amino acid, b: composition range, c: (wt.%), d: L-arginine, e: L-leucine, f: L-isoleucine, g: L-valine, h: L-lysine, i: L-threonine, j: L-tryptophan, k: L-methionine, l: L-phenylalanine, m: L-histidine

(54) ANTITOXIC AGENT FOR BACTERIAL EXOTOXIN

(11) 2-306915 (A) (43) 20.12.1990 (19) JP
 (21) Appl. No. 64-126119 (22) 19.5.1989
 (71) MITSUI NORIN K.K. (72) TADAKATSU SHIMAMURA(1)
 (51) Int. Cl⁵. A61K31/35,A61K35/78//C07D311/62

PURPOSE: To obtain an antitoxic agent, consisting essentially of a green tea polyphenol, useful for preventing and treating intoxication symptoms due to bacterial toxins without a fear of side effects.

CONSTITUTION: The objective substance obtained by containing at least one green tea polyphenol selected from epigallocatechin gallate, epicatechin gallate, epigallocatechin, epicatechin, (+)-catechin, free type theaflavin, theaflavin monogallate A, theaflavin monogallate B and theaflavin digallate as a principal ingredient and formulating a pharmaceutical according to a conventional method. Although the pharmaceutical can be prepared in the form of powder, tablet, solution, etc., the agent is preferably incorporated in a water transfusion solution recipe and administered in a dose of 30-500mg. The agent is capable of specifically and powerfully acting on extracellular toxins produced by bacteria, such as *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* or staphylococci.

P C T

E P



国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
〔PCT 18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 WA-0448	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/00648	国際出願日 (日.月.年) 15.02.99	優先日 (日.月.年)
出願人 (氏名又は名称) ニッカウキスキー株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (PCT 18条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (PCT 規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A61K31/35, A61K31/78//C07D311/62

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A61K31/00-78, C07D311/00-62

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)

PROANTHOCYANIDIN?, DIARRH?, CHOLERA, BOTULINUS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	HOR, M.; NEINRICH, M.; RIMPLER, H.; Proanthocyanidin Polymers with Antisecretory Activity and Proanthocyanidin Oligomers from <u>Guazuma Ulmifolia</u> Bark. Phytochemistry, Vol. 42, No. 1, p. 109-119 (1997)	1-8, 10 1-8, 10, 11 9
X Y A	WO, 94/03193, A1 (株式会社 ツムラ) 17.2月. 1994 (17.02.94) ファミリーなし	1-8, 10 1-8, 10, 11 9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27.04.99

国際調査報告の発送日

18.05.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 恵

4 P

9164

電話番号 03-3581-1101 内線 6608

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	JP, 10-29947, A (NIPPON KOTAI KENKYUSHO KK) 3. 2月. 1998 (03. 02. 98) ファミリーなし	1-8, 10, 11 9
A	JP, 2-306915, A (MITUI NORIN CO LTD) 20. 12月. 1990 (20. 12. 90) &EP, 397914, A	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP99/00648

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K31/35, A61K31/78 // C07D311/62

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K31/00-78, C07D311/00-62

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN), PROANTHOCYANIDIN? DIARRH?, CHOLERA, BOTULINUS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	HOR, M.; NEINRICH, M.; RIMPLER, H.; Proanthocyanidin Polymers with Antisecretory Activity and Proanthocyanidin Oligomers from <u>Guazuma Ulmifolia</u> Bark. Phytochemistry, Vol. 42, No. 1, p.109-119 (1997)	1-8, 10 1-8, 10, 11 9
X Y A	WO, 94/03193, A1 (Tsumura & Co.), 17 February, 1994 (17. 02. 94) (Family: none)	1-8, 10 1-8, 10, 11 9
Y A	JP, 10-29947, A (NIPPON KOTAI KENKYUSHO KK), 3 February, 1998 (03. 02. 98) (Family: none)	1-8, 10, 11 9
A	JP, 2-306915, A (MITSUI NORIN CO LTD), 20 December, 1990 (20. 12. 90) & EP, 397914, A	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
---	--

Date of the actual completion of the international search
27 April, 1999 (27. 04. 99)

Date of mailing of the international search report
18 May, 1999 (18. 05. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.